



PCT/R 03/03656

REC'D 23 FEB 2004

WIPO PCT

# BREVET D'INVENTION

## CERTIFICAT D'UTILITÉ - CERTIFICAT D'ADDITION

### COPIE OFFICIELLE

Le Directeur général de l'Institut national de la propriété industrielle certifie que le document ci-annexé est la copie certifiée conforme d'une demande de titre de propriété industrielle déposée à l'Institut.

Fait à Paris, le 29 DEC. 2003

Pour le Directeur général de l'Institut  
national de la propriété Industrielle  
Le Chef du Département des brevets

Martine PLANCHE

#### DOCUMENT DE PRIORITÉ

PRÉSENTÉ OU TRANSMIS  
CONFORMÉMENT À LA  
RÈGLE 17.1.a) OU b)



INSTITUT  
NATIONAL DE  
LA PROPRIÉTÉ  
INDUSTRIELLE

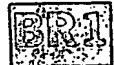
26 bis, rue de Saint Pétersbourg  
75800 Paris Cedex 08  
Téléphone : 33 (1) 53 04 53 04 Télécopie : 33 (1) 42 94 86 54

# BREVET D'INVENTION CERTIFICAT D'UTILITÉ

Code de la propriété intellectuelle - Livre VI

N° 11354\*03

## REQUÊTE EN DÉLIVRANCE page 1/2



Cet imprimé est à remplir lisiblement à l'encre noire

DB-540 @ W/ 210502

REMISE DES PIÈCES	Réervé à l'INPI
DATE	INPI GRENOBLE 17 DEC. 2002
LIEU	0716012
N° D'ENREGISTREMENT	
NATIONAL ATTRIBUÉ PAR L'INPI	
DATE DE DÉPÔT ATTRIBUÉE	17 DEC. 2002
PAR L'INPI	
Vos références pour ce dossier PA1651FR (facultatif)	

<input checked="" type="checkbox"/> NOM ET ADRESSE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE A QUI LA CORRESPONDANCE DOIT ÊTRE ADRESSÉE
Cabinet Hecke World Trade Center - Europole 5, place Robert Schuman BP-1537 38025 Grenoble Cedex 1

Confirmation d'un dépôt par télécopie	
<input checked="" type="checkbox"/> NATURE DE LA DEMANDE	
Demande de brevet	<input type="checkbox"/>
Demande de certificat d'utilité	<input type="checkbox"/>
Demande divisionnaire	<input type="checkbox"/>
Demande de brevet initiale	
ou demande de certificat d'utilité initiale	
Transformation d'une demande de brevet européen	<input type="checkbox"/>
Demande de brevet initiale	<input type="checkbox"/>

N° attribué par l'INPI à la télécopie  
Cochez l'une des 4 cases suivantes

<input checked="" type="checkbox"/>	N°	Date
<input type="checkbox"/>	N°	Date
<input type="checkbox"/>	N°	Date

### 3 TITRE DE L'INVENTION (200 caractères ou espaces maximum)

Micro-composant étalon pour le calibrage ou l'étalonnage d'équipements de mesure de fluorescence et biopuce le comportant.

<input checked="" type="checkbox"/> DÉCLARATION DE PRIORITÉ OU REQUÊTE DU BÉNÉFICE DE LA DATE DE DÉPÔT D'UNE DEMANDE ANTÉRIEURE FRANÇAISE	Pays ou organisation Date	N°
	Pays ou organisation Date	N°
	Pays ou organisation Date	N°
<input type="checkbox"/> S'il y a d'autres priorités, cochez la case et utilisez l'imprimé « Suite »		

### 4 DEMANDEUR (Cochez l'une des 2 cases)

Nom ou dénomination sociale	<input checked="" type="checkbox"/> Personne morale <input type="checkbox"/> Personne physique
Prénoms	
Forme juridique	Etablissement Public de Caractère scientifique, technique et industriel
N° SIREN	
Code APE-NAF	
Domicile ou siège	Rue
	Code postal et ville
	75752 Paris
	Pays
Nationalité	française
N° de téléphone (facultatif)	N° de télécopie (facultatif)
Adresse électronique (facultatif)	

S'il y a plus d'un demandeur, cochez la case et utilisez l'imprimé « Suite »

BREVET D'INVENTION  
CERTIFICAT D'UTILITÉ

REQUÊTE EN DÉLIVRANCE  
page 2/2

BR2

Réervé à l'INPI

REMISE DES PIÈCES  
DATE INPI GRENOBLE 17 DEC. 2002

LEU 0246012

N° D'ENREGISTREMENT  
NATIONAL ATTRIBUÉ PAR L'INPI

PA1651FR

DB 540 W / 210502

**1. MANDATAIRE (s'il y a lieu)**

Nom	Hecké	Jouvray
Prénom	Gérard	Marie-Andrée
Cabinet ou Société	Cabinet Hecké (S.A.)	
N °de pouvoir permanent et/ou de lien contractuel		
Adresse	Rue	World Trade Center - Europole 5, place Robert Schuman - BP 1537
	Code postal et ville	38025 Grenoble Cedex
Pays	France	
N ° de téléphone (facultatif)	04 76 84 95 45	
N ° de télécopie (facultatif)	04 76 84 95 48	
Adresse électronique (facultatif)	hecke@dial.oleane.com	

**2. INVENTEUR (S)**

Les demandeurs et les inventeurs sont les mêmes personnes	<input type="checkbox"/> Oui <input checked="" type="checkbox"/> Non : Dans ce cas remplir le formulaire de Désignation d'inventeur(s)
---	---

**3. RAPPORT DE RECHERCHE**

Établissement immédiat ou établissement différé	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
---	---

Paiement échelonné de la redevance (en deux versements)	Uniquement pour les personnes physiques effectuant elles-mêmes leur propre dépôt <input type="checkbox"/> Oui <input checked="" type="checkbox"/> Non
---	---

**4. RÉDUCTION DU TAUX DES REDEVANCES**

	Uniquement pour les personnes physiques <input type="checkbox"/> Requise pour la première fois pour cette invention (joindre un avis de non-imposition) <input type="checkbox"/> Obtenu antérieurement à ce dépôt pour cette invention (joindre une copie de la décision d'admission à l'assistance gratuite ou indiquer sa référence) : AG
--	---

**5. SÉQUENCES DE NUCLEOTIDES ET/OU D'ACIDES AMINÉS**

Le support électronique de données est joint	<input type="checkbox"/>
--	--------------------------

La déclaration de conformité de la liste de séquences sur support papier avec le support électronique de données est jointe

Si vous avez utilisé l'imprimé «Suite», indiquez le nombre de pages jointes

1

**6. SIGNATURE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE (Nom et qualité du signataire)**

Gérard Hecké  
CPI 95-1201

Marie-Andrée Jouvray  
CPI 01-0410

VISA DE LA PRÉFECTURE  
OU DE L'INPI

D. P. CR



INSTITUT  
NATIONAL DE  
LA PROPRIÉTÉ  
INDUSTRIELLE

26 bis, rue de Saint Pétersbourg  
75800 Paris Cedex 08  
Téléphone : 33 (1) 53 04 53 04 Télécopie : 33 (1) 42 94 86 54

# BREVET D'INVENTION

## CERTIFICAT D'UTILITÉ

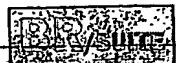
Code de la propriété intellectuelle - Livre VI



N° 11354\*03

### REQUÊTE EN DÉLIVRANCE

Page suite N° 1/1



Réserve à l'INPI

REMISE DES PIÈCES	INPI GRENOBLE - 17 DEC. 2002
DATE	
LIEU	0216012
N° D'ENREGISTREMENT	
NATIONAL ATTRIBUÉ PAR L'INPI	

Cet imprimé est à remplir lisiblement à l'encre noire

DB 829 @ W / 010702

Vos références pour ce dossier (facultatif)		PA1651FR
<input checked="" type="checkbox"/> DÉCLARATION DE PRIORITÉ <input type="checkbox"/> OU REQUÊTE DU BÉNÉFICE DE <input type="checkbox"/> LA DATE DE DÉPÔT D'UNE <input type="checkbox"/> DEMANDE ANTÉRIEURE FRANÇAISE		Pays ou organisation Date N°
		Pays ou organisation Date N°
		Pays ou organisation Date N°
<b>5. DEMANDEUR (Cochez l'une des 2 cases)</b>		<input checked="" type="checkbox"/> Personne morale <input type="checkbox"/> Personne physique
Nom ou dénomination sociale		Biomérieux
Prénoms		SA
Forme juridique		673620399
N° SIREN		
Code APE-NAF		
Domicile ou siège	Rue	
	Code postal et ville	69280 Marcy L'Etoile
	Pays	
Nationalité		Française
N° de téléphone (facultatif)		
N° de télécopie (facultatif)		
Adresse électronique (facultatif)		
<b>5. DEMANDEUR (Cochez l'une des 2 cases)</b>		<input type="checkbox"/> Personne morale <input type="checkbox"/> Personne physique
Nom ou dénomination sociale		
Prénoms		
Forme juridique		
N° SIREN		
Code APE-NAF		
Domicile ou siège	Rue	
	Code postal et ville	
	Pays	
Nationalité		
N° de téléphone (facultatif)		
N° de télécopie (facultatif)		
Adresse électronique (facultatif)		
<input checked="" type="checkbox"/> SIGNATURE DU DEMANDEUR <input type="checkbox"/> OU DU MANDATAIRE (Nom et qualité du signataire)		Gérard Hecké CPI 95-1201  Marie-Andrée Jouffray CPI 01-0410
		VISA DE LA PRÉFECTURE OU DE L'INPI  D.R.G.R.

**Micro-composant étalon pour le calibrage ou l'étalonnage d'équipements  
de mesure de fluorescence et biopuce le comportant.**

5      **Domaine technique de l'invention**

L'invention concerne un micro-composant étalon pour le calibrage et l'étalonnage d'équipements de mesure de fluorescence comprenant un substrat sur lequel est disposée au moins une couche mince, comportant des 10 composants fluorescents définissant un premier niveau de fluorescence.

**Etat de la technique**

15      Un micro-composant étalon connu (figure 1) comporte un substrat 1 en verre, non fluorescent, sur lequel est déposée une couche 2 en matériau organique fluorescent, de 3 microns d'épaisseur. Il comporte également des ouvertures 3 formées dans la couche 2 par gravure. Ce type de micro-composant permet d'obtenir un niveau de fluorescence correspondant à celui de la couche 2. 20      Cependant les ouvertures 3 ont approximativement une largeur de 4 microns et sont espacées les unes des autres de 8 microns, ce qui n'est pas satisfaisant pour le calibrage des instruments généralement employés.

Le document WO0159503 décrit un micro-composant étalon comportant une 25 couche fluorescente déposée sur un substrat. Il est généralement utilisé pour établir une base de référence entre différents microscopes et pour caractériser une qualité d'image, par exemple en termes de résolution, de contraste, de profondeur de champ et de distorsion. La couche est recouverte par un masque fin, comportant des ouvertures et non fluorescent. Le masque et la couche

fluorescente sont placées l'un sur l'autre, ce qui nécessite trois opérations de fabrication : la réalisation de la couche, la réalisation du masque et leur assemblage. De plus, le masque et la couche étant réalisés en deux matériaux différents, ils ne peuvent pas être placés sur le même plan optique, au risque de déformer l'image optique de la zone observée.

5

### Objet de l'invention

10 L'invention a pour but un micro-composant étalon ne présentant pas les inconvénients des micro-composants étalons de l'art antérieur et facile à réaliser.

15 Selon l'invention, ce but est atteint par le fait que la couche mince comporte au moins une zone insolée de manière à définir au moins un deuxième niveau de fluorescence inférieur au premier niveau de fluorescence.

20 Selon un développement de l'invention, la couche mince comporte des ouvertures définissant un troisième niveau de fluorescence inférieur aux premier et second niveaux de fluorescence.

Selon un mode de réalisation préférentiel, la couche mince comporte une pluralité de zones insolées de manière à définir une pluralité de niveaux de fluorescence différents.

25

Selon une autre caractéristique de l'invention, le micro-composant étalon comporte une pluralité de couches minces superposées, de manière à définir une pluralité de niveaux de fluorescence.

L'invention a également pour objet une biopuce comportant, sur un même substrat, au moins une sonde biologique et au moins un micro-composant étalon tel que décrit ci-dessus.

5 L'invention a également pour objet un procédé de fabrication d'un micro-composant étalon comprenant le dépôt sur un substrat d'au moins une couche mince fluorescente définissant un premier niveau de fluorescence, et l'insolation d'au moins une zone de la couche mince.

## 10 Description sommaire des dessins

D'autres avantages et caractéristiques ressortiront plus clairement de la description qui va suivre de modes particuliers de réalisation de l'invention donnés à titre d'exemples non limitatifs et représentés aux dessins annexés, 15 dans lesquels :

La figure 1 est une représentation schématique d'un micro-composant étalon selon l'art antérieur.

La figure 2 représente schématiquement un premier mode de réalisation d'un 20 micro-composant étalon selon l'invention.

Les figures 3 et 4 représentent un second mode de réalisation d'un micro-composant étalon selon l'invention, respectivement avant et après gravure d'une seconde couche mince.

La figure 5 est une représentation schématique d'une biopuce comprenant un 25 micro-composant étalon selon l'invention.

Les figures 6 et 7 représentent des troisième et quatrième modes de réalisation d'un micro-composant étalon comportant une couche mince de protection selon l'invention.

### Description de modes particuliers de réalisation.

Sur la figure 2, un micro-composant étalon 4 destiné au calibrage ou à l'étalonnage d'équipements de mesure de fluorescence, tels que les microscopes de fluorescence confocale ou non, comporte un substrat 1, non-fluorescent, sur lequel est disposée au moins une couche mince 2. Le substrat 1 est, de préférence, constitué par un matériau choisi parmi le silicium, la silice, le quartz, les plastiques et les verres.

La couche mince 2 comporte des composants fluorescents définissant un premier niveau de fluorescence. Elle peut être réalisée en matériau fluorescent ou comporter des particules ou des molécules fluorescentes. Ainsi, elle peut être constituée par une résine photosensible, fluorescente ou comportant des particules fluorescentes, telles que la Duramide® 7505 commercialisée par la société OLIN Microelectronic Material.

La couche mince 2 est déposée sur le substrat 1, par tout type de procédé connu. A titre d'exemple, elle peut être déposée par un procédé de dépôt chimique en phase vapeur, sous basse pression dit procédé LPCVD (« Low Pressure Chemical Vapor Deposition »), ou sous plasma aussi appelé procédé PECVD (« Plasma Enhanced Chemical Vapor Deposition »). La couche mince 2 peut également être réalisée par un dépôt de tetraethoxysilane ( $\text{Si}(\text{OC}_2\text{H}_5)_4$  ou TEOS), par un procédé de dépôt par centrifugation d'une couche de photorésine connu sous les termes anglo-saxon de « spin-coating », par un dépôt localisé de résine (procédé « lift-off »), par évaporation, par pulvérisation ou par trempage-étirage.

La couche mince 2 comporte, de préférence, au moins une ouverture 3 libérant la surface du substrat 1. Sur la figure 2, sept ouvertures 3 sont formées dans la

couche mince 2 et elles définissent un second niveau de fluorescence correspondant au niveau de fluorescience du substrat 1. Le niveau de fluorescence du substrat est au moins 10 fois inférieur au premier niveau de fluorescence de la couche mince 2, et préférentiellement 100 inférieur au premier niveau de fluorescence. L'ensemble des ouvertures 3 forme des motifs et elles sont réalisées par tout type de moyens connus. Elles sont, par exemple, formées par gravure, par photolithographie, par photolithographie suivie d'une gravure (procédé « lift-off »). Ainsi, pour une couche mince 2 en résine photosensible, les ouvertures 3 sont, de préférence, réalisées par une étape de photolithographie classique (insolation puis révélation chimique).

La couche mince 2 comporte au moins une zone 2a insolée par une source lumineuse 5, qui est, par exemple, une lampe à vapeur de mercure. Deux zones 2a insolées sont représentées sur la figure 2. L'insolation des zones 2a de la couche mince 2 engendre une oxydation des composants fluorescents réduisant leur caractéristique de fluorescence. Ce phénomène plus connu sous le nom anglo-saxon de « bleaching » est généralement considéré comme néfaste. Malgré ce préjugé, ce phénomène est, selon l'invention, utilisé pour diminuer, de manière contrôlée, les caractéristiques de fluorescence de la couche mince 2 au niveau des zones 2a, et donc le niveau de fluorescence des zones 2a.

Les zones 2a ont alors un niveau de fluorescence intermédiaire, inférieur au premier niveau de fluorescence de la couche mince 2 non insolée et, dans l'exemple décrit, supérieur au second niveau de fluorescence des ouvertures 3.

Le choix des paramètres tels que la longueur d'onde, la puissance et la période de temps du rayonnement lumineux émis par la source lumineuse 5 déterminent le niveau de fluorescence intermédiaire, pour qu'il soit inférieur au premier niveau de fluorescence de la couche mince non insolée et supérieur au second niveau de fluorescence, c'est-à-dire, le plus souvent, non nul. Ces paramètres

sont ajustés en fonction du type de matériau constituant la couche mince ainsi que de l'épaisseur de celle-ci. A titre d'exemple, le niveau de fluorescence d'une couche mince en résine Duramide® 7595 d'environ 10 microns d'épaisseur peut être réduit de moitié en isolant la couche mince avec une lampe à vapeur de mercure, avec une puissance de  $14500\text{W/m}^2$  et une durée d'insolation de 240 minutes.

Le micro-composant étalon 4, tel que décrit ci-dessus, présente l'avantage d'être facile à réaliser. En effet, les techniques de mise en œuvre sont des techniques usuelles en micro-électronique qui permettent d'atteindre des dimensions de motifs de l'ordre de  $0,3\mu\text{m}$ . Elles permettent de fabriquer collectivement un grand nombre de micro-composants étalons sur un même substrat et le nombre d'étapes de réalisation est limité.

Selon une première variante de réalisation, la couche mince 2 peut comporter une pluralité de zones insolées, de manière à définir une pluralité de niveaux intermédiaires de fluorescence différents. Les niveaux de fluorescence intermédiaires sont déterminés en fonction des caractéristiques locales globales d'insolation (puissance et durée d'insolation). Ces caractéristiques globales sont obtenues au cours d'une ou plusieurs insolations successives, indépendantes ou complémentaires.

Selon une autre variante de réalisation, le micro-composant étalon peut comporter en plus, une pluralité de couches minces superposées, pouvant être totalement, partiellement ou non insolées, de manière à définir une pluralité de niveaux de fluorescence. Chaque couche mince comporte au moins une ouverture 3 et les ouvertures 3 d'au moins deux couches peuvent être superposées. Ceci présente l'avantage de réaliser un micro-composant étalon ayant des dimensions équivalentes à celles des objets que le lecteur, dont on

souhaite le calibrage ou l'étalonnage, lit. En particulier, l'épaisseur du matériau fluorescent constituant les motifs est proche de celle des zones à mesurer sur des biopuces, par exemple. Ceci permet de calibrer le lecteur dans des conditions optiques équivalentes à celles de lectures usuelles. L'épaisseur du micro-composant étalon est, de préférence, inférieure à 50 microns, voir 10 microns.

Ainsi, sur la figure 3, une seconde couche mince 6 est déposée par tout type de moyen approprié sur le micro-composant étalon 4 comportant une première couche 2 telle que celle décrite à la figure 2. La seconde couche 6 recouvre alors les ouvertures 3, la première couche mince 2 et les zones 2a insolées. Les première et seconde couches 2 et 6 ont des caractéristiques de fluorescence distinctes, soit par la nature des composants fluorescents respectifs qu'elles comportent, soit par leurs concentrations respectives en composants fluorescents.

Une partie de la seconde couche 6 est ensuite retirée (figure 4) par tout type de moyen approprié, de manière à former des zones 6a, 6b et 6c, recouvrant respectivement une partie des zones 2a de la première couche mince 2, une partie des ouvertures 3 et une partie de la couche mince 2. Les zones 6b définissent un troisième niveau de fluorescence correspondant à la caractéristique de fluorescence de la seconde couche mince 6. L'accumulation de plusieurs couches minces fluorescentes l'une sur l'autre augmentant d'autant le niveau de fluorescence, les zones 6a et 6c, respectivement superposées aux zones 2a et à la couche mince 2, définissent un quatrième et un cinquième niveaux de fluorescence. Les quatrième et cinquième niveaux de fluorescence sont supérieurs au niveau de fluorescence le plus élevé des première et seconde couches 2 et 6 non insolées. Le micro-composant étalon 4 selon la figure 4, comporte alors 5 niveaux de fluorescence différents.

Le micro-composant étalon peut être réalisé sur un substrat, sur lequel sont ensuite réalisées des sondes biologiques. Ainsi, sur la figure 5, une biopuce 7 comporte un substrat 1, sur lequel sont déposés des sondes biologiques 8 et le micro-composant étalon 4. Il est alors possible de réaliser des biopuces 5 comportant, sur un même substrat, au moins un micro-composant étalon et au moins une sonde biologique.

Les niveaux de fluorescence du micro-composant étalon peuvent également être stabilisés dans le temps, en disposant, après insolation, au moins une couche mince de protection, sur au moins une partie des couches minces du micro-composant étalon. La couche mince de protection permet d'isoler, du milieu extérieur, au moins une partie des couches minces.

A titre d'exemple représenté sur la figure 6, un micro-composant 4 du type représenté sur la figure 2, comporte un substrat 1 non-fluorescent, sur lequel est disposée au moins une première couche mince 2 structurée. La couche mince 2 peut également être constituée de molécules biologiques marquées par des particules ou des molécules fluorescentes. Dans ce cas, cette couche est réalisée et définie par tout type de procédés connus dans le domaine des biopuces (fonctionnalisation, hybridation, adsorption...). Le micro-composant 15 20 comportant ce type de couche mince peut, alors, servir de biopuce de référence.

La première couche mince 2 est recouverte d'une couche mince de protection 9, destinée à isoler la première couche mince 2 du milieu extérieur dans lequel se trouve le micro-composant 4. Le milieu extérieur est généralement de l'air. Ainsi, la couche de protection 9 évite l'oxydation des composants fluorescents contenus dans la couche mince 2, ce qui rend les composants fluorescents stables dans le temps.

La couche de protection peut être opaque ou semi-transparénte, lorsque la lecture du micro-composant est réalisée à travers le substrat. Le substrat est, alors, transparent aux signaux optiques de lecture et qui peut être, par exemple, en verre, en silice ou en plastique. Au contraire, dans le cas où la lecture du 5 micro-composant est réalisée du côté opposé au substrat, la couche de protection 9 doit être transparente aux signaux optiques de lecture reçus et renvoyés par la première couche mince 2. Ceci permet d'exciter et d'observer le phénomène de fluorescence, sans le perturber.

10 La couche mince de protection 9 est réalisée par tout type de procédé approprié aux exigences de la couche de protection 9. A titre d'exemple, elle peut être réalisée par un procédé LPCVD, PECVD, par évaporation, par pulvérisation ou par spin-coating. Avantageusement, la couche de protection 9 peut être structurée par tout type de moyens connus dans la microélectronique, de manière à recouvrir, par exemple, au moins une partie des zones fluorescentes.

15 Selon une variante de réalisation, la couche mince 2 peut être recouverte par une pluralité de couches minces de protection superposées. De plus, la ou les couches minces de protection peuvent être utilisées pour renforcer les caractéristiques de fluorescence de la couche mince 2. Dans ce cas, les couches minces de protection peuvent être du type des couches minces décris dans le document WO-A-0248691. En particulier, le matériau formant la couche mince de protection peut être choisi parmi les matériaux suivants : TiO<sub>2</sub>, Ta<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, HfO<sub>2</sub>, ZrO<sub>2</sub>, MgO, SiO<sub>2</sub>, Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>, MgF<sub>2</sub>, et YF<sub>3</sub>, Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, ZrO<sub>4</sub>Ti, Y<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, le diamant et les oxynitrides. De plus, l'épaisseur de la couche mince de protection 20 ou de chaque couche mince de protection est, de préférence, calculée à partir de la formule suivante : n.e = k. λ / 4, dans laquelle n est l'indice de réfraction du matériau composant la couche mince de protection pour une longueur d'onde λ du signal optique de lecture reçu par la première couche mince, e est

l'épaisseur optique de la couche de protection et  $k$  est un entier impair.

L'épaisseur optique correspond au produit de l'indice de réfraction  $n$  avec l'épaisseur de la couche mince considérée, pour la longueur d'onde considérée.

5      Comme représenté à la figure 7, le micro-composant étalon peut, comme sur la figure 4, comporter une pluralité de couches minces 2 et 6 superposées, de manière à définir une pluralité de niveaux de fluorescence. Après structuration de la couche mince 6, la couche mince de protection 9 est déposée sur le micro-composant 4, de manière à recouvrir, par exemple, totalement les couches 2 et  
10     6 et les parties découvertes du substrat 1. Le micro-composant 4, notamment destiné à l'étalonnage ou au calibrage des équipements de mesure de la fluorescence, comporte alors plusieurs niveaux de fluorescence protégés contre le milieu extérieur.

15    L'emploi d'une couche mince de protection permet de réaliser des micro-composants, tels que les puces étalons ou micro-composants étalons, ayant des caractéristiques de fluorescence stables dans le temps, ce qui permet de réaliser des comparaisons entre plusieurs mesures étalées dans le temps ou entre différents appareils de mesure, par rapport à une référence invariant dans  
20    le temps.

L'invention n'est pas limitée aux modes de réalisation décrits ci-dessus. Ainsi, au moins une partie de la seconde couche mince 6 peut également être insolée, en même temps que les zones 2a, avant ou après, avec des paramètres 25 d'insolation, tels que la longueur d'onde, la durée ou la puissance d'insolation, différents ou identiques.

**Revendications**

1. Micro-composant étalon pour le calibrage et l'étalonnage d'équipements de mesure de fluorescence comprenant un substrat (1) sur lequel est disposée au moins une couche mince (2, 6), comportant des composants fluorescents définissant un premier niveau de fluorescence, caractérisé en ce que la couche mince (2, 6) comporte au moins une zone (2a) isolée de manière à définir au moins un deuxième niveau de fluorescence inférieur au premier niveau de fluorescence.

10

2. Micro-composant étalon selon la revendication 1, caractérisé en ce que la couche mince (2, 6) comporte au moins une ouverture (3) définissant un troisième niveau de fluorescence inférieur aux premier et second niveaux de fluorescence.

15

3. Micro-composant étalon selon la revendication 2, caractérisé en ce que le troisième niveau de fluorescence correspond au niveau de fluorescence du substrat.

20 4. Micro-composant étalon selon l'une quelconque des revendications 2 ou 3, caractérisé en ce que le troisième niveau de fluorescence est au moins 10 fois inférieur au premier niveau de fluorescence.

25 5. Micro-composant étalon selon la revendication 4, caractérisé en ce que le troisième niveau de fluorescence est 100 fois inférieur au premier niveau de fluorescence.

6. Micro-composant étalon selon l'une quelconque des revendications 1 à 5, caractérisé en ce que la couche mince (2, 6) est constituée par un matériau fluorescent.

5 7. Micro-composant étalon selon l'une quelconque des revendications 1 à 6, caractérisé en ce que la couche mince (2, 6) comporte une pluralité de zones insolées de manière à définir une pluralité de niveaux de fluorescence différents.

8. Micro-composant étalon selon l'une quelconque des revendications 1 à 7, 10 caractérisé en ce que la couche mince (2, 6) est constituée par une résine photosensible.

9. Micro-composant étalon selon l'une quelconque des revendications 1 à 8, 15 caractérisé en ce que le substrat (1) est constitué par un matériau choisi parmi le silicium, la silice synthétique, le quartz, les plastiques et les verres.

10. Micro-composant étalon selon l'une quelconque des revendications 1 à 9, caractérisé en ce qu'au moins une partie de la couche mince (2, 6) est recouverte par une couche mince de protection (9).

20 11. Micro-composant selon la revendication 10, caractérisé en ce que la couche mince de protection (9) est transparente à des signaux optiques de lecture reçus et renvoyés par la couche mince (2, 6).

25 12. Micro-composant selon l'une quelconque des revendications 10 et 11, caractérisé en ce que le micro-composant (4) comporte une pluralité de couches minces de protection (5) superposées.

13. Micro-composant selon l'une quelconque des revendications 10 à 12, caractérisé en ce que le matériau formant la couche mince de protection (9) est choisi parmi les matériaux suivants :  $TiO_2$ ,  $Ta_2O_5$ ,  $HfO_2$ ,  $ZrO_2$ ,  $MgO$ ,  $SiO_2$ ,  $Si_3N_4$ ,  $MgF_2$ ,  $YF_3$ ,  $Al_2O_3$ ,  $ZrO_4-Ti$ ,  $Y_2O_3$ , le diamant et les oxynitrides.

5

14. Micro-composant selon l'une quelconque des revendications 10 à 13, caractérisé en ce que l'épaisseur de la couche mince de protection (9) est calculée à partir de la formule suivante :  $n.e = k \cdot \lambda / 4$ , dans laquelle n est l'indice de réfraction du matériau composant la couche mince de protection (9) pour une longueur d'onde  $\lambda$  du signal optique de lecture reçu par la couche mince (2, 6), e est l'épaisseur optique de la couche mince de protection (9) et k est un entier impair.

10

15. Micro-composant étalon selon l'une quelconque des revendications 1 à 14, caractérisé en ce que le micro-composant étalon (4) comporte une pluralité de couches minces (2, 6) superposées de manière à définir une pluralité de niveaux de fluorescence.

15

16. Micro-composant étalon selon la revendication 15, caractérisé en ce que les ouvertures (3) d'au moins deux couches minces (2, 6) sont superposées.

20

17. Biopuce caractérisée en ce qu'elle comporte, sur un même substrat, au moins une sonde biologique et au moins un microcomposant étalon selon l'une quelconque des revendications 1 à 16.

25

18. Procédé de fabrication d'un micro-composant étalon selon l'une quelconque des revendications 1 à 17, comprenant le dépôt sur un substrat (1) d'au moins une couche mince (2, 6) fluorescente définissant un premier niveau de

13. Micro-composant selon l'une quelconque des revendications 10 à 12, caractérisé en ce que le matériau formant la couche mince de protection (9) est choisi parmi les matériaux suivants :  $TiO_2$ ,  $Ta_2O_5$ ,  $HfO_2$ ,  $ZrO_2$ ,  $MgO$ ,  $SiO_2$ ,  $Si_3N_4$ ,  $MgF_2$ ,  $YF_3$ ,  $Al_2O_3$ ,  $ZrO_4Ti$ ,  $Y_2O_3$ , le diamant et les oxynitrides.

5

14. Micro-composant selon l'une quelconque des revendications 10 à 13, caractérisé en ce que l'épaisseur de la couche mince de protection (9) est calculée à partir de la formule suivante :  $n.e = k \cdot \lambda / 4$ , dans laquelle n est l'indice de réfraction du matériau composant la couche mince de protection (9) pour une longueur d'onde  $\lambda$  du signal optique de lecture reçu par la couche mince (2, 6), e est l'épaisseur optique de la couche mince de protection (9) et k est un entier impair.

10

15. Micro-composant étalon selon l'une quelconque des revendications 1 à 14, caractérisé en ce que le micro-composant étalon (4) comporte une pluralité de couches minces (2, 6) superposées de manière à définir une pluralité de niveaux de fluorescence.

15

20. Micro-composant étalon selon la revendication 15, caractérisé en ce que les ouvertures (3) d'au moins deux couches minces (2, 6) sont superposées.

20

17. Biopuce caractérisée en ce qu'elle comporte, sur un même substrat, au moins une sonde biologique et au moins un microcomposant étalon selon l'une quelconque des revendications 1 à 16.

25

18. Procédé de fabrication d'un micro-composant étalon selon l'une quelconque des revendications 1 à 16, comprenant le dépôt sur un substrat (1) d'au moins une couche mince (2, 6) fluorescente définissant un premier niveau de

fluorescence, procédé caractérisé en ce qu'il consiste à insoler au moins une zone (2a) de la couche mince.

19. Procédé de fabrication d'un micro-composant étalon selon la revendication 5 18, caractérisé en ce qu'il comporte le dépôt, sur le substrat (1), d'une pluralité de couches minces superposées (2, 6).

20. Procédé de fabrication d'un micro-composant étalon selon l'une des revendications 18 et 19, caractérisé en ce qu'il comporte après isolation le 10 dépôt d'une couche mince de protection.

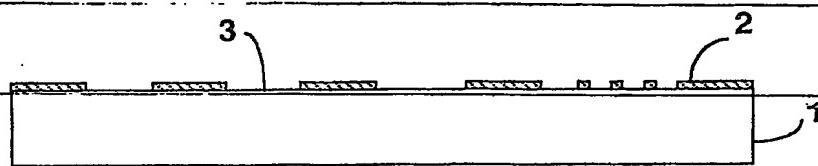


Fig. 1 (Art antérieur)

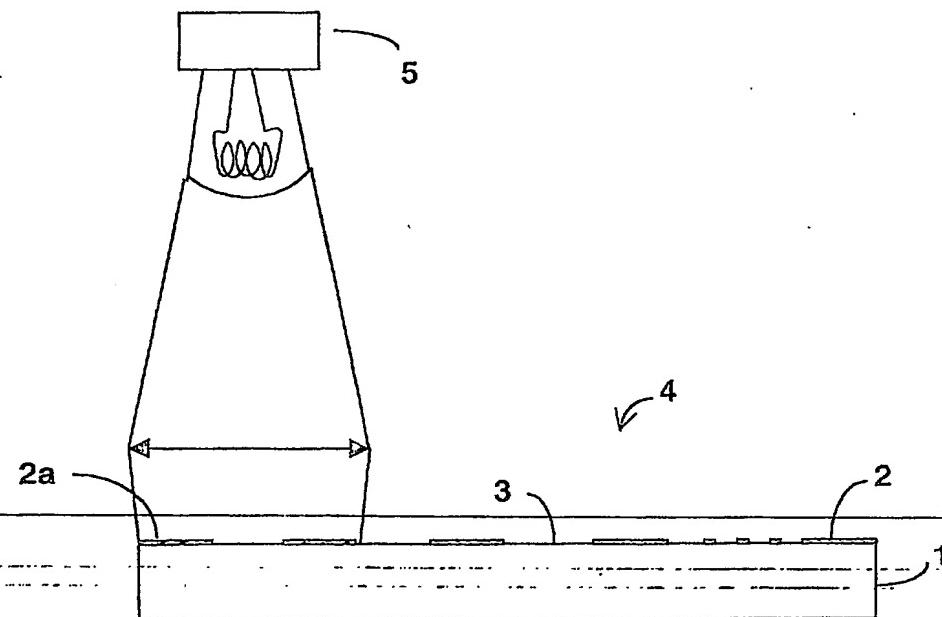


Fig. 2

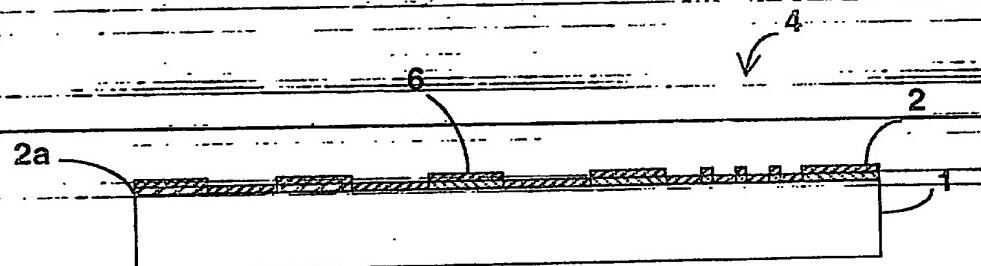


Fig. 3

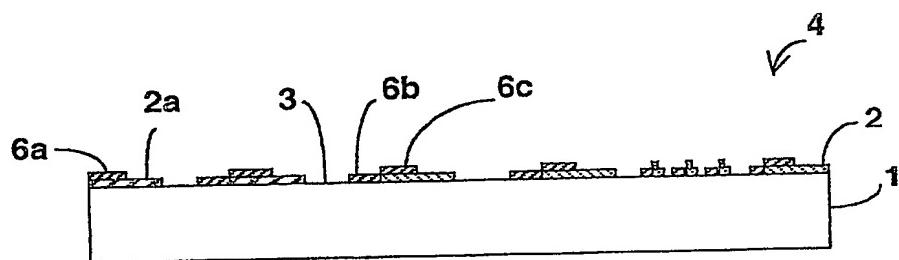


Fig. 4

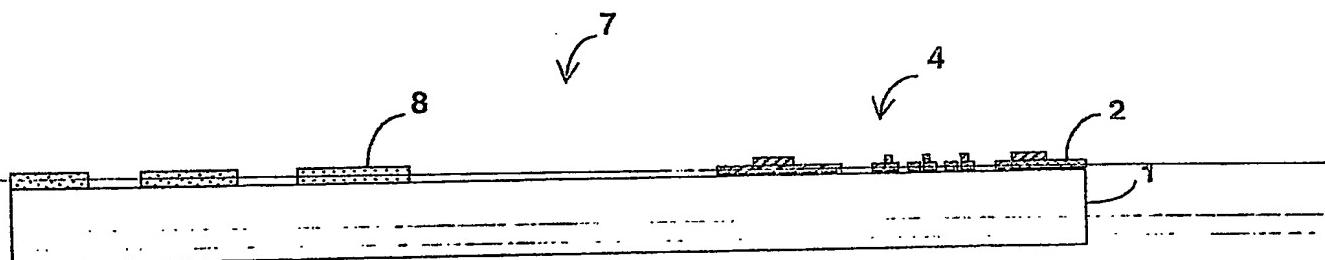


Fig. 5

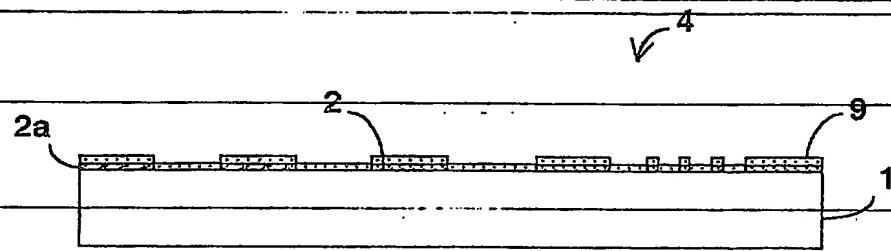


Fig. 6

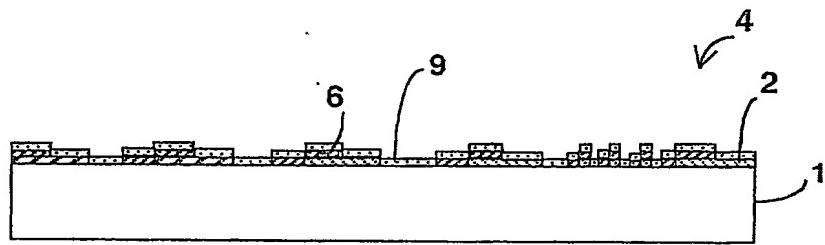


Fig. 7

DÉPARTEMENT DES BREVETS

26 bis, rue de Saint-Pétersbourg  
75800 Paris Cedex 08  
Téléphone : 33 (1) 53 04 53 04 Télécopie : 33 (1) 42 94 86 54

DÉSIGNATION D'INVENTEUR(S) Page N° 1 / 2

(À fournir dans le cas où les demandeurs et les inventeurs ne sont pas les mêmes personnes)

Cet imprimé est à remplir lisiblement à l'encre noire

DB 113 @ W / 270601

Vos références pour ce dossier (facultatif) PA1651FR

N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL 0716012

TITRE DE L'INVENTION (200 caractères ou espaces maximum)

Micro-composant étalon pour le calibrage ou l'étalonnage d'équipements de mesure de fluorescence et biopuce le comportant.

LE(S) DEMANDEUR(S) :

Commissariat à l'Energie Atomique  
Biomérieux

DESIGNE(NT) EN TANT QU'INVENTEUR(S) :

<input checked="" type="checkbox"/> Nom	Cochet	
Prénoms	Martine	
Adresse	Rue	39 Route de St Jean
	Code postal et ville	38430 Moirans
Société d'appartenance (facultatif)		
<input checked="" type="checkbox"/> Nom	Perraut	
Prénoms	François	
Adresse	Rue	Les Nesmes
	Code postal et ville	38134 Saint-Joseph-de-Rivière
Société d'appartenance (facultatif)		
<input checked="" type="checkbox"/> Nom	Pouteau	
Prénoms	Patrick	
Adresse	Rue	10 Allée Chateau Corbeau
	Code postal et ville	38240 Meylan
Société d'appartenance (facultatif)		

S'il y a plus de trois inventeurs, utilisez plusieurs formulaires. Indiquez en haut à droite le N° de la page suivie du nombre de pages.

DATE ET SIGNATURE(S)

DU (DES) DEMANDEUR(S) .....

OU DU MANDATAIRE

(Nom et qualité du signataire)

Gérard Hecké  
CPI 95-1201

Marie-Andrée Jouvray  
CPI 01-0410

DÉPARTEMENT DES BREVETS

26 bis, rue de Saint-Pétersbourg  
75800 Paris Cedex 08  
Téléphone : 33-(1) 53-04-53-04 Télécopie : 33-(1) 42-94-86-54

DÉSIGNATION D'INVENTEUR(S) Page N° 2/2

(À fournir dans le cas où les demandeurs et  
les inventeurs ne sont pas les mêmes personnes)

Cet imprimé est à remplir lisiblement à l'encre noire

DB 113 @ W / 270601



Vos références pour ce dossier (facultatif)

PA1651FR

N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL

0216012

TITRE DE L'INVENTION (200 caractères ou espaces maximum)

Micro-composant étalon pour le calibrage ou l'étalonnage d'équipements de mesure de fluorescence et biopuce le comportant.

LE(S) DEMANDEUR(S) :

Commissariat à l'Energie Atomique

DESIGNE(NT) EN TANT QU'INVENTEUR(S) :

<input checked="" type="checkbox"/> Nom		Revol-Cavalier
Prénoms		Frédéric
Adresse	Rue	11 rue de la Saulne
	Code postal et ville	38180 Seyssins
Société d'appartenance (facultatif)		
<input type="checkbox"/> Nom		
Prénoms		
Adresse	Rue	
	Code postal et ville	
Société d'appartenance (facultatif)		
<input type="checkbox"/> Nom		
Prénoms		
Adresse	Rue	
	Code postal et ville	
Société d'appartenance (facultatif)		

S'il y a plus de trois inventeurs, utilisez plusieurs formulaires. Indiquez en haut à droite le N° de la page suivi du nombre de pages.

DATE ET SIGNATURE(S)

DU (DES) DEMANDEUR(S)  
OU DU MANDATAIRE

(Nom et qualité du signataire)

Gérard Hecké  
CPI 95-1201

Marie-Andrée Jouvray  
CPI 01-0410

PCT Application  
**PCT/FR2003/003656**

